

⑤

Int. Cl. 3

C 07 C 69/732

⑯ BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

C 07 C 69/30

A 61 K 31/215

A 61 K 31/19

DEUTSCHES PATENTAMT



DE 30 28 284 A 1

⑪

Offenlegungsschrift 30 28 284 ~~✓~~

⑫

Aktenzeichen: P 30 28 284.9

⑬

Anmeldetag: 25. 7. 80

⑭

Offenlegungstag: 19. 2. 81

⑰

Unionspriorität:

⑳ ㉑ ㉒

27. 7. 79 Japan P 95814-79

26. 9. 79 Japan P 123461-79

⑤④

Bezeichnung: Monacolin K-derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Derivate enthaltende Arzneimittel

⑦①

Anmelder: Sankyo Co., Ltd., Tokio

⑦④

Vertreter: Fünér, A.v., Dr.; Strehl, P., Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing.;
Schübel-Hopf, U., Dr.; Ebbinghaus, D., Dipl.-Ing.; Finck, D., Dr.-Ing.;
Pat.-Anwälte, 8000 München

⑦②

Erfinder: Tsujita, Yoshio, Ichikawa, Chiba; Kuroda, Masao, Machida;
Tanzawa, Kazuhido, Musashino; Iwado, Seigo, Tanashi; Tokio;
Hamano, Kiyoshi, Kawasaki, Kanagawa; Terahara, Akira, Tokio;
Sato, Sadao, Yokohama, Kanagawa (Japan)

DE 30 28 284 A 1

PATENTANWÄLTE
SCHIFF v. FÜNER STREHL SCHÜBEL-HOPF EBBINGHAUS FINCK
3028284
MARIAHILFPLATZ 2 & 3, MÜNCHEN 90
POSTADRESSE: POSTFACH 95 0160, D-8000 MÜNCHEN 95

ALSO PROFESSIONAL REPRESENTATIVES
BEFORE THE EUROPEAN PATENT OFFICE

KARL LUDWIG SCHIFF (1964-1978)
DIPL. CHEM. DR. ALEXANDER v. FÜNER
DIPL. ING. PETER STREHL
DIPL. CHEM. DR. URSULA SCHÜBEL-HOPF
DIPL. ING. DIETER EBBINGHAUS
DR. ING. DIETER FINCK

SANKYO COMPANY LIMITED

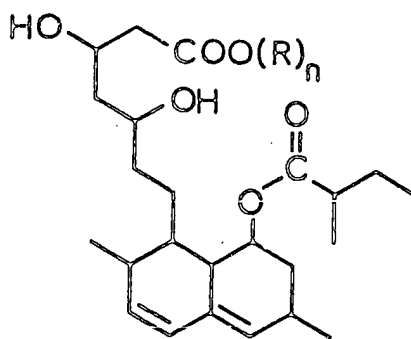
TELEFON (089) 482064
TELEX 5-25865 AURO D
TELEGRAMME AUOMARCPAT MÜNCHEN

25. Juli 1980

" Monacolin K-derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und
diese Derivate enthaltende Arzneimittel "

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Monacolin K-derivate mit antihypercholesterinämischer
Wirkung der Formel



in der R ein Metallatom oder eine substituierte oder unsub-
stituierte Alkylgruppe bedeutet und n den reziproken Wert
der Wertigkeit des Atoms oder der Gruppe R darstellt.

120008/0799

2. Monacolin K-salze nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R ein Metallatom ist.
3. Salze nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Metallatom ein Natrium-, Kalium-, Calcium-, Magnesium-, Aluminium-, Eisen-, Zink-, Kupfer-, Nickel- oder Kobaltatom ist.
4. Salze nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Metallatom ein Natrium-, Calcium- oder Aluminiumatom ist.
5. Monacolin K-ester nach Anspruch 1m dadurch gekennzeichnet, daß R eine substituierte oder unsubstituierte Alkylgruppe ist und n den Wert 1 hat.
6. Ester nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß R eine Alkyl-, Aralkyl- oder Acylalkylgruppe bedeutet.
7. Ester nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß R eine Alkyl-, Aralkyl- oder Arylcarbonylalkylgruppe bedeutet.
8. Ester nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß R eine Alkylgruppe, eine substituierte oder unsubstituierte Benzylgruppe oder eine substituierte oder unsubstituierte Phenacylgruppe bedeutet.
9. Ester nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß R eine Alkylgruppe, eine Benzylgruppe, eine Benzylgruppe mit einem oder mehreren Alkyl-, Alkoxy- oder Halogensubstituenten, eine Phenacylgruppe oder eine Phenacylgruppe mit einem oder mehreren Alkyl-, Alkoxy- oder Halogensubstituenten bedeutet.
10. Ester nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß R eine Methyl-, Äthyl-, Butyl- oder Benzylgruppe bedeutet.

11. Verfahren zur Herstellung von Monacolin K-salzen und -estern, dadurch gekennzeichnet, daß man Monacolin K oder dessen reaktives Derivat verestert oder in ein Salz überführt.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß man als reaktives Derivat die Säure, von der sich Monocalin K ableitet, oder ein Monacolin K-salz verwendet.

13. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß man Monacolin K-ester durch Umsetzen eines Halogenids der Formel RX, wobei R eine substituierte oder unsubstituierte Alkylreste und X ein Halogenatom bedeutet, mit einem Monacolin K-salz herstellt.

14. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß man Monacolin K-ester durch Umsetzen eines Alkohols der Formel ROH (wobei R eine substituierte oder unsubstituierte Alkylgruppe ist) mit Monacolin K oder der Säure, von der es sich ableitet, in Gegenwart eines Dehydratisierungsmittels herstellt.

15. Verfahren zur Herstellung von Monacolin K-salzen, dadurch gekennzeichnet, daß man einen Monacolin K-salze bildenden Mikroorganismus des Genus Monascus in einem geeigneten Kulturmedium züchtet und das Monacolin K-salz aus dem Kulturmedium gewinnt.

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß man als Mikroorganismus des Genus Monascus Monascus anka SANK 10171 (IFO 6540), Monascus purpureus SANK 10271 (IFO 4513), Monascus ruber SANK 10671 (Ferm 4958), Monascus vitreus SANK 10960 (NIHS 609, e-609, Ferm 4960), Monascus paxii SANK 11172 (IFO 8201), Monascus ruber SANK 11272 (IFO 9203), Monascus ruber SANK 13778 (Ferm 4959), Monascus ruber SANK 15177 (Ferm 4956), Monascus ruber SANK 17075 (CBS 832.70); Monascus ruber SANK 17175 (CBS 503.70), Monascus ruber SANK 17275 (ATCC 18199) oder Monascus ruber SANK 18174 (Ferm 4957) verwendet.

130008/0799

17. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß man als Mikroorganismus *Monascus ruber* SANK 10671 (Ferm 4958), *Monascus ruber* SANK 11272 (IFO 9203), *Monascus ruber* SANK 13778 (Ferm 4959), *Monascus ruber* SANK 15177 (Ferm 4956) oder *Monascus ruber* SANK 18184 (Ferm 4957) verwendet.

18. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß das Salz ein Natrium-, Kalium-, Calcium-, Magnesium-, Aluminium-, Eisen-, Zink-, Kupfer-, Nickel- oder Kobaltsalz ist.

19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß das Salz ein Natrium-, Calcium- oder Aluminiumsalz ist.

20. Arzneimittel, enthaltend mindestens eine Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 10.

1300008/0788

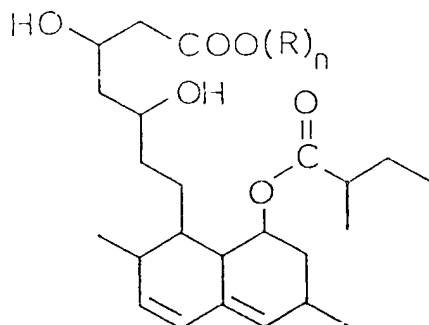
BESCHREIBUNG

Die Erfindung betrifft Salze und Ester der freien Säure, die dem Lacton Monacolin K entspricht, Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung als antihypercholesterinämische Mittel.

In der DE-PA P 30 06 216.9 ist die Verbindung Monacolin K und ihre Herstellung mit Mikroorganismen des Genus Monascus, insbesondere Monascus ruber Stamm 1005 (FERM 4822) beschrieben. Auch die wertvolle und unerwartete Aktivität der Verbindung Monacolin K als antihypercholesterinämisches Mittel ist offenbart. In der DE-PA P 30 06 215.8 ist die Herstellung von Monacolin K durch Züchtung verschiedener anderer Mikroorganismen des Genus Monascus beschrieben. Es wurde nun gefunden, daß die Salze und Ester der freien Säure, deren Lacton Monacolin darstellt, eine ähnliche antihypercholesterinämische Wirkung wie Monacolin K in vergleichbarem oder größerem Maße besitzen. Der Einfachheit halber werden diese Derivate im folgenden als Monacolin K-salze bzw. -ester bezeichnet. Hierbei versteht es sich jedoch, daß es sich um Salze und Ester der Säure handelt, deren Lacton Monacolin K ist.

Die erfindungsgemäßen Monacolin K-salze und -ester haben die Formel

1000008/0788



in der R eine substituierte oder unsubstituierte Alkylgruppe oder ein Metallatom bedeutet und n der Reziprokwert der Wertigkeit der Gruppe bzw. des Atoms R ist.

Gegenstand der Erfindung ist ferner ein Verfahren zur Herstellung der Monacolin K-salze und -ester, bei dem man Monacolin K oder dessen reaktive Derivate verestert bzw. in ein Salz überführt.

Gegenstand der Erfindung ist ferner ein Verfahren zur Herstellung von Monacolin K-salzen, bei dem man einen Monacolin K-salze bildenden Mikroorganismus des Genus Monascus züchtet und das Monacolin K-salz aus dem Kulturmedium gewinnt.

Die erfindungsgemäßen Monacolin K-salze sind Metallsalze und vorzugsweise Alkalimetallsalze, z.B. Natrium- und Kaliumsalze, Erdalkalimetallsalze, z.B. Calcium- oder Magnesiumsalze, Salze von Metallen der Gruppe IIIa des Periodensystems, z.B. das Aluminiumsalz, und Salze von Übergangsmetallen der Gruppen Ib, IIb und VIII des Periodensystems, z.B. Eisen-, Nickel-, Kobalt-, Kupfer- und Zinksalze. Hiervon sind Alkalimetallsalze, Erdalkalimetallsalze und Aluminiumsalze bevorzugt und das Natrium-, Calcium- und Aluminiumsalz besonders bevorzugt.

Die Monacolin K-salze können durch Ansäuern leicht in Monacolin K oder die Säure, von der sich Monacolin K ableitet, überführt werden. Das erhaltene Monacolin K bzw. die Säure können mit einer Alkalibase, z.B. einem Alkalimetallhydroxid oder -carbonat, wieder in ein Salz umgewandelt werden. Diese Umwandlung kann quantitativ und mehrmals durchgeführt werden. Es hat sich gezeigt, daß die Umwandlung zwischen Monacolin K bzw. dessen Stammsäure und dem Metallsalz in enger Beziehung zum pH des Mediums steht, in dem sie enthalten sind. Der kritische pH-Wert beträgt etwa 5,0. Unter vorausgesetzter Verfügbarkeit von Metallionen liegt Monacolin K bei einem pH über 5,0 stets in Form eines Salzes vor. Andererseits liegen bei einem pH unter 5,0 Monacolin K, dessen Stammsäure oder ein Gemisch aus beiden in variierenden Verhältnissen vor.

Die erfindungsgemäßen Monacolin K-ester sind Verbindungen der vorstehenden Formel, in der R eine substituierte oder unsubstituierte Alkylgruppe ist. Die unsubstituierten Alkylgruppen R können geradkettig oder verzweigt sein und enthalten vorzugsweise bis zu 8 Kohlenstoffatome. Spezielle Beispiele für Alkylgruppen R sind Methyl, Äthyl, Propyl, Isopropyl, Butyl und Hexyl.

Wenn R eine substituierte Alkylgruppe ist, kann der Substituent in üblicher Weise aus einer Vielzahl von Gruppen und Atomen ausgewählt werden, einschließlich Arylgruppen, Acylgruppen, insbesondere Arylcarbonylgruppen, Alkoxygruppen, Halogenatomen und Hydroxylgruppen. Besonders bevorzugte Substituenten sind Aryl- und Arylcarbonylgruppen, d.h. R stellt eine Aralkyl- oder Arylcarbonylalkylgruppe dar.

Bevorzugte Alkylgruppen R sind substituierte oder unsubstituierte Benzylgruppen. Die substituierten Benzylgruppen tragen vorzugsweise einen oder mehrere Substituenten aus der Reihe der Alkylgruppen, Alkoxygruppen und Halogenatome. Spezielle Beispiele sind Benzyl, 2-Methylbenzyl, 3-Methylbenzyl, 4-Methylbenzyl, 2-Äthylbenzyl, 3-Äthylbenzyl, 4-Äthylbenzyl, 2-Methoxybenzyl, 3-Methoxybenzyl, 4-Methoxybenzyl, 2-Äthoxybenzyl, 3-Äthoxybenzyl, 4-Äthoxybenzyl, 2-Chlorbenzyl, 3-Chlorbenzyl, 4-Chlorbenzyl, 2-Brombenzyl, 3-Brombenzyl und 4-Brombenzyl.

Die Arylcarbonylalkylgruppen R sind vorzugsweise substituierte oder unsubstituierte Phenacylgruppen. Die substituierten Phenacylgruppen tragen vorzugsweise einen oder mehrere Substituenten aus der Reihe der Alkylgruppen, Alkoxygruppen und Halogenatome. Spezielle Beispiele sind Phenacyl, 2-Methylphenacyl, 3-Methylphenacyl, 4-Methylphenacyl, 2-Äthylphenacyl, 3-Äthylphenacyl, 4-Äthylphenacyl, 2-Methoxyphenacyl, 3-Methoxyphenacyl, 4-Methoxyphenacyl, 2-Äthoxyphenacyl, 3-Äthoxyphenacyl, 4-Äthoxyphenacyl, 2-Chlorphenacyl, 3-Chlorphenacyl, 4-Chlorphenacyl, 2-Bromphenacyl, 3-Bromphenacyl und 4-Bromphenacyl.

Unter den Estern sind Methyl-, Äthyl-, Butyl- und Benzylester besonders bevorzugt.

Die erfindungsgemäßen Monacolin K-salze und Ester können dadurch hergestellt werden, daß man Monacolin K oder ein reaktives Monacolin K-derivat verestert oder in ein Salz überführt. Beispiele für geeignete reaktive Derivate sind die Stammsäure, von der sich Monacolin K ableitet, und, im Falle der Herstellung von Estern, Monacolin K-salze, z.B. die vorstehenden Salztypen, insbesondere das Natrium-, Kalium-, Calcium-, Magnesium-, Aluminium-, Eisen-, Zink-, Kupfer-, Nickel- und Kobaltsalz.

Monacolin K-salze können durch einfaches Umsetzen von Monacolin K oder seiner Stammsäure mit einem Oxid, Hydroxid, Carbonat oder Bicarbonat, vorzugsweise einem Hydroxid oder Carbonat, des gewünschten Metalls hergestellt werden. Hierbei ist darauf zu achten, daß die Reaktion bei einem pH von mehr als 5,0, vorzugsweise mehr als 7,0, durchgeführt wird, um eine vollständige Umwandlung von Monacolin K bzw. der Säure in das gewünschte Salz zu erzielen. Das in dieser Reaktion eingesetzte Monacolin K wird vorzugsweise auf die in den vorstehend genannten Patentanmeldungen beschriebene Weise durch Züchtung eines Fungus aus dem Genus Monascus und Isolieren von Monacolin K aus dem Kulturmedium hergestellt. Das Monacolin K kann vor der Salzbildung aus dem Kulturmedium isoliert und gereinigt werden; vorzugsweise erfolgt jedoch die Salzbildung im Laufe der Isolierung und Reinigung von Monacolin K aus dem Kulturmedium, so daß das Monacolin K in Form des gewünschten Metallsalzes isoliert wird. Unabhängig von der Verfahrensweise kann das Metallsalz aus dem Reaktionsmedium oder dem Kulturmedium nach an sich bekannten Methoden isoliert werden, z.B. den nachstehend im Zusammenhang mit der Isolierung von Monacolin K-Metallsalzen aus Kulturen von Monacolin K-salz bildenden Fungi beschriebenen Methoden.

Monacolin K-Ester werden durch einfaches Verestern von Monacolin K oder dessen reaktiven Derivaten erhalten. Die Reaktion kann durch Umsetzen eines Alkohols der Formel ROH oder eines entsprechenden reaktiven Derivats (wobei R ein substituierter oder unsubstituierter Alkylrest ist) mit Monacolin K oder dessen Stammsäure, vorzugsweise in Gegenwart eines Dehydratisierungsmittels, z.B. eines Säurechlorids, wie Acetylchlorid, durchgeführt werden. Alternativ erhält man Monacolin K-ester durch Umsetzen eines Monacolin K-salzes mit einem Halogenid der Formel RX (wobei R ein substituierter oder unsubstituierter Alkylrest und X ein Halogenatom, vorzugsweise ein Jodatom, bedeuten).

Es ist auch möglich, Monacolin K-salze direkt durch Züchtung eines Monacolin K-salz-bildenden Mikroorganismus des Genus *Monascus* herzustellen. Hierfür geeignete Mikroorganismen sind z.B. *Monascus anka* SANK 10171 (IFO 6540); *Monascus purpureus* SANK 10271 (IFO 4513), *Monascus ruber* SANK 10671 (Ferm 4958), *Monascus vitreus* SANK 10960 (NIHS 609, e-609; Ferm 4960); *Monascus paxii* SANK 11172 (IFO 8201), *Monascus ruber* SANK 11272 (IFO 9203); *Monascus ruber* SANK 13778 (Ferm 4959); *Monascus ruber* SANK 15177 (Ferm 4956), *Monascus ruber* SANK 17075 (CBS 832,70); *Monascus ruber* SANK 17175 (CBS 503.70), *Monascus ruber* SANK 17275 (ATCC 18199) und *Monascus ruber* SANK 18174 (Ferm 4957). All diese Mikroorganismen sind bei den folgenden anerkannten Hinterlegungsstellen zugänglich:

- IFO = Institute for Fermentation, Osaka, Japan
- Ferm = Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology, Ministry of International Trade and Industry, Japan,
- NIHS = National Institute of Hygienic Sciences, Japan;
- CBS = Centraal Bureau voor Schimmelcultures, Niederlande;
- ATCC = American Type Culture Collection, Maryland, V.St.A.

Bevorzugte Stämme des Genus *Monascus*, die zur Herstellung von Monacolin K-salzen eingesetzt werden können, sind *Monascus ruber* SANK 10671, *Monascus ruber* SANK 11272, *Monascus ruber* SANK 13778, *Monascus ruber* SANK 15177 und *Monascus ruber* SANK 18174.

Monascus ruber SANK 10671, Monascus ruber SANK 13778, Monascus ruber SANK 15177 und Monascus ruber SANK 18174 sind Fungi, die erst kürzlich aus dem Erdboden isoliert wurden. Ihre mikrobiologischen Eigenschaften sind im folgenden angegeben.

Monascus ruber SANK 17177 (FERM 4956)

Dieser Stamm wurde aus einer Bodenprobe isoliert, die bei Tukimino, Yamato-city, Präfektur Kanagawa, Japan, aufgefunden wurde, und am 27. April 1979 unter der Hinterlegungs-Nr. 4956 beim Fermentation Research Institute hinterlegt.

Der Stamm zeigt gutes Wachstum auf einem Kartoffel-Glucose-Agarmedium bei 25°C und bildet einen löslichen Farbstoff, der dem Medium einen gelblich-braunen bis rötlich-braunen Farbton verleiht. Er bildet zahlreiche Kleistothezien auf der Basalschicht der Hyphen.

Auf Hafermehl-Agarmedium bildet er einen blaßbraunen Farbstoff und zeigt gutes Wachstum. Die Bildung von Kleistothezien ist gut und die gebildeten Kleistothezien sind kugelig mit einem Durchmesser von 30 bis 60 µm und sind auf kurzen Stielen ausgebildet. Diese Stiele sind nahezu farblos und verzweigt und haben eine Größe von 25 bis 60 x 3,5 bis 5,0 µm. Die Asci sind verschwindend klein und somit schwer zu beobachten. Die Ascosporen sind farblos und ellipsoid mit den Dimensionen 4,5 bis 6,5 x 4,0 bis 5,0 µm und zeigen glatte Oberflächen. Die Konidien sind basipetal verbunden und haben eine Größe von 7,0 bis 10,0 x 6,0 bis 10,0 µm. Ihre Gewebe sind unterbrochen. Obwohl der Stamm bei 37°C wächst, ist das beste Wachstum bei 23 bis 30°C zu beobachten.

3028284

Monascus ruber SANK 10671 (FERM 4958)

Dieser Stamm wurde aus einer Bodenprobe aus Shinagawa-ku, Tokyo, Japan, isoliert und am 27. April 1979 unter der Hinterlegungs-Nr. 4958 beim Fermentation Research Institute hinterlegt.

Das Wachstum auf Kartoffel-Glucose-Agar- und Hafermehl-Agar-Medium ist ähnlich dem des Stammes SANK 15177, mit der Ausnahme, daß der gebildete lösliche Farbstoff dunkelrot ist. Die Kleistothezien haben einen Durchmesser von 30 bis 80 μm und die Abmessungen der Stiele betragen 30 bis 70 x 3,0 bis 5,0 μm . Asci werden nicht beobachtet. Die Asosporen sind farblos und ellipsoid mit den Dimensionen 4,5 bis 6,5 x 4,0 bis 5,0 μm . Die Konidien sind farblos und birnenförmig oder eiförmig und haben eine Größe von 6,0 bis 10,0 x 6,0 bis 8,5 μm .

Monascus ruber SANK 13778 (FERM 4959)

Dieser Stamm wurde aus einer Bodenprobe von Inawashiro-cho, Nagata, Yama-gun, Präfektur Fukushima, Japan, isoliert und am 27. April 1979 unter der Hinterlegungs-Nr. 4959 beim Fermentation Research Institute hinterlegt.

Das Wachstum auf Kartoffel-Glucose-Agar- und Hafermehl-Agar-Medium ist ähnlich dem des Stammes SANK 15177, mit der Ausnahme, daß der gebildete lösliche Farbstoff einen blaßrötlich-braunen bis rötlich-braunen Farbton hat. Die Kleistothezien haben einen Durchmesser von 35 bis 75 μm und die Stiele haben eine Größe von 30 bis 70 x 3,5 bis 5,0 μm . Asci werden nicht beobachtet. Die Ascosporen sind farblos und ellipsoid und haben eine Größe von 4,5 bis 6,0 x 4,0 bis 5,0 μm . Ihre Oberflächen sind glatt. Die Konidien haben eine Größe von 7,0 bis 10,0 x 6,0 bis 10,0 μm .

130008/0799

Monascus ruber SANK 18174 (FERM 4957)

Dieser Stamm wurde aus einer Bodenprobe aus Shakotan-cho, Shakotan-gun, Shiribeshi Shicho, Präfektur Hokkaido, Japan, isoliert und am 27. April 1979 unter der Hinterlegungs-Nr. 4957 beim Fermentation Research Institute hinterlegt.

Das Wachstum auf Kartoffel-Glucose-Agar- und Hafermehl-Agar-medium ist ähnlich dem des Stammes SANK 15177, mit der Ausnahme, daß der gebildete Farbstoff blaßrosa ist. Die Kleistothezien haben einen Durchmesser von 20 bis 70 μm und die Abmessungen der Stiele betragen 20 bis 60 x 3,0 bis 5,0 μm . Asci werden nicht beobachtet. Die Ascosporen sind farblos und ellipsoid mit einer Größe von 5,0 bis 7,0 x 4,0 bis 5,5 μm . Ihre Oberflächen sind glatt. Die Konidien sind basipetal miteinander verknüpft und farblos. Die meisten von ihnen sind birnenförmig und haben eine Größe von 6,0 bis 9,5 x 6,0 bis 10,0 μm .

Aufgrund der genannten Eigenschaften wurden diese Mikroorganismen als Stämme von *Monascus ruber* van Tieghem identifiziert.

Über die mikrobiologischen Eigenschaften von *Monascus ruber* wird in den nachstehenden Veröffentlichungen berichtet: Takada, Transactions of the Micological Society of Japan, Bd. 9, S. 125 - 130 (1969) (Materials for the Fungus Flora of Japan (7)) und van Tieghem, Bull. Soc. Botan. France, Bd. 31, S. 227 (1884). Über die Ascosporenbildung des Stammes berichten Cole et al. in Canadian Journal of Botany, Bd. 46, S. 987 (1968). "Conidium ontogeny in hyphomycetes. The imperfect state of *Monascus ruber* and its meristem arthrospores".

3028284

Neben den vorstehend genannten Pilzstämmen können beliebige Fungi des Genus *Monascus*, einschließlich Varietäten und Mutanten, die zur Bildung von Monacolin K-salzen befähigt sind, im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt werden.

Die Monacolin K-salze können durch Züchtung des gewählten Mikroorganismus in einer Kulturbrühe unter aeroben Bedingungen hergestellt werden, wobei die für die Züchtung von Fungi und anderen Mikroorganismen üblichen Techniken angewandt werden. So kann z.B. der gewählte Stamm von *Monascus* zunächst auf einem geeigneten Medium gezüchtet werden, worauf man den gebildeten Mikroorganismus gewinnt, in ein anderes Kulturmedium einimpft und in diesem züchtet, um das gewünschte Monacolin K-salz zu erhalten. Hierbei können das für die Vermehrung des Mikroorganismus verwendete Kulturmedium und das für die Bildung von Monacolin K-salzen verwendete Medium gleich oder verschieden sein. Jedes für die Züchtung von Fungi bekannte Kulturmedium kann verwendet werden,

vorausgesetzt, daß es die erforderlichen Nährstoffe enthält, insbesondere eine assimilierbare Kohlenstoffquelle und eine assimilierbare Stickstoffquelle. Beispiele für geeignete assimilierbare Kohlenstoffquellen sind Glucose, Maltose, Dextrin, Stärke, Lactose, Sucrose und Glycerin. Hiervon sind Glucose und Glycerin für die Bildung von Monacolin K-salzen besonders bevorzugt. Beispiele für geeignete assimilierbare Stickstoffquellen sind Pepton, Fleischextrakt, Hefe, Hefeextrakt, Sojamehl, Erdnußmehl, Maisquellflüssigkeit, Reiskleie und anorganische Stickstoffquellen. Hiervon ist Pepton besonders bevorzugt. Bei der Herstellung der Monacolin K-salze kann dem Kulturmedium gegebenenfalls ein anorganisches Salz und/oder ein Metallsalz zugesetzt werden. Außerdem können gegebenenfalls geringe Mengen an Schwermetallen zugegeben werden. Bei der Herstellung von Monacolin K-salzen durch Fermentation eines Fungus des Genus *Monascus* ist es wichtig, daß in dem Kulturmedium oder im Körper des Fungus Metallionen vorhanden sind, die dem herzu-

stellenden Metallsalz entsprechen.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird der Mikroorganismus zunächst auf einem Kartoffel-Dextrose-Agar-medium (z.B. einem Produkt der Difco Company) subkultiviert und dann in ein anderes Kulturmedium eingepflegt und dort gezüchtet, um das gewünschte Monacolin K-salz herzustellen.

Der Mikroorganismus wird vorzugsweise unter aeroben Bedingungen unter Anwendung üblicher Methoden gezüchtet, z.B. in Festkultur, Schüttelkultur oder belüfteter und gerührter Kultur. Der Mikroorganismus wächst innerhalb eines breiten Temperaturbereiches, z.B. 7 bis 35°C; insbesondere zur Bildung von Monacolin K oder Monacolin K-salzen ist jedoch eine Züchtungstemperatur von 20 bis 30°C besonders bevorzugt.

Während der Züchtung des Mikroorganismus kann die Bildung des Monacolin K-salzes überwacht werden, indem man Proben aus dem Kulturmedium entnimmt und die physiologische Aktivität des Monacolin K-salzes in dem Kulturmedium mit Hilfe der nachstehend beschriebenen Tests mißt. Die Züchtung kann dann fortgesetzt werden, bis in dem Kulturmedium eine wesentliche Anreicherung von Monacolin K-salz erreicht ist. Das Monacolin K-salz kann dann aus dem Kulturmedium und den Geweben des Mikroorganismus mit Hilfe jeder geeigneten Kombination von Isoliermethoden isoliert und gewonnen werden, die im Hinblick auf seine physikalischen und chemischen Eigenschaften ausgewählt werden. So können z.B. beliebige oder alle der nachstehenden Isoliermethoden angewandt werden: Extraktion der Flüssigkeit aus der Kulturbrühe mit einem hydrophilen Lösungsmittel, wie Diäthyläther, Äthylacetat oder Chloroform; Extraktion des Organismus mit einem hydrophilen Lösungsmittel, wie Aceton oder einem Alkohol; Konzentrieren, z.B. durch Abdampfen eines Teils oder des gesamten Lösungsmittels unter vermindertem Druck; Lösen in einem stärker polaren Lösungsmittel, wie Aceton oder einem Alkohol; Entfernen von Verunreinigungen

mit einem weniger polaren Lösungsmittel, wie Petroläther oder Hexan; Gelfiltration durch eine z.B. mit Sephadex (Handelsname der Pharmacia Co., Limited, USA) gefüllte Säule; Absorptionschromatographie an Aktivkohle oder Silicagel, Hochgeschwindigkeits-Flüssigkeitschromatographie; Umwandlung in Monacolin K oder dessen Stammsäure; direkte Reinigung in Form des Metallsalzes; sowie ähnliche Methoden. Durch Anwendung einer geeigneten Kombination dieser Verfahren kann das gewünschte Monacolin K-salz aus der Kulturbrühe als Reinsubstanz isoliert werden.

Wie in den vorstehend genannten Patentanmeldungen beschrieben, kann auch Monacolin K unter Verwendung der vorstehend genannten Mikroorganismen und Methoden hergestellt werden.

Die physiologische Aktivität der Monacolin K-salze und -ester kann mit Hilfe der nachstehenden Tests nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden. Diese Tests können auch in modifizierter Form zur Überwachung der Bildung von Monacolin K-salzen im Verlaufe des erfindungsgemäßen Fermentationsverfahrens angewandt werden.

1. Inhibierung der Cholesterinbiosynthese

Wie Monacolin K selbst inhibieren auch Monacolin K-salze und -ester spezifisch die Aktivität der 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-Reduktase, die das geschwindigkeitsbestimmende Enzym bei der Biosynthese von Cholesterin ist. In der folgenden Tabelle I sind die Konzentrationen (ng/ml) der erfindungsgemäßen Verbindungen angegeben, die die Aktivität von 3-Hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA-Reduktase zu 50 % inhibieren (gemessen nach der in Analytical Biochemistry, Bd. 31, S. 383 (1969) beschriebenen Methode). Ferner sind die Konzentrationen (ng/ml) der erfindungsgemäßen Verbindungen angegeben, die die Cholesterinbiosynthese zu 50 % inhibieren (gemessen nach

3028284

der in Journal of Biological Chemistry, Bd. 247, S. 4914 (1972) beschriebenen Methode). Zum Vergleich sind die entsprechenden Ergebnisse für die bekannte Verbindung ML-236B genannt, die ein ähnliches Aktivitätsmuster zeigt und durch Züchten von Mikroorganismen des Genus Penicillium zugänglich ist; vgl. GB-PS 1 453 425. Ferner ist die Konzentration an Monacolin K angegeben, die die Cholesterin-Biosynthese zu 50 % inhibiert. Die Ergebnisse zeigen, daß die für eine 50prozentige Inhibierung der Cholesterin-Biosynthese erforderliche Konzentration an ML-236B 10,0 ng/ml beträgt, während die entsprechende Konzentration für die Monacolin K-ester nur etwa 1 ng/ml (d.h. etwa 10 mal besser) und für das Natriumsalz von Monacolin K etwa 0,14 ng/ml (d.h. etwa 70 mal besser) beträgt. Die Aktivitäten der Salze und Ester von Monacolin K sind mit der von Monacolin K vergleichbar oder sogar besser.

Tabelle I

Verbindung	Konzentration (ng/ml) für 50 %-Inhibierung	
	HMG-CoA-Reduktase	Cholesterin-Biosynthese
Methylester	70,0	1,2
Äthylester	12,0	1,3
Butylester	15,0	2,0
Benzylester	11,0	1,1
Natriumsalz	2,0	0,14
Calciumsalz	12,0	1,8
Monacolin K	-	2,0
ML - 236B	10,0	10,0

130008/0799

2. Verringerung des Blut-Cholesterinspiegels

Die verwendeten Versuchstiere sind Ratten von Stamm Wistar Imamichi mit einem Körpergewicht von etwa 300 g. Die Tests werden an Gruppen von je 5 Ratten durchgeführt. Jedem Tier werden 400 mg/kg Triton WR-1339 (Handelsname für ein Produkt, das den Blut-Cholesterinspiegel erhöht) intravenös injiziert, während gleichzeitig eine der in der folgenden Tabelle II genannten Verbindungen in der ebenfalls angegebenen Menge oral verabreicht wird. 20 Stunden nach der oralen Verabreichung werden die Ratten durch Verbluten getötet, das Blut und die Leber werden isoliert und die Cholesterinspiegel werden auf übliche Weise bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle II genannt, wobei die Verringerung der Blut- und Leber-Cholesterinspiegel mit einer Kontrollgruppe von Ratten verglichen werden, denen allein Triton WR 1339 verabreicht wurde.

Zum Vergleich sind auch die entsprechenden Ergebnisse für Monacolin K und ML-236B angegeben, die in wesentlich größeren Dosen als die erfindungsgemäßen Verbindungen verabreicht werden müssen, um eine vergleichbare Verringerung der Cholesterinspiegel zu erzielen.

Tabelle II

Verbindung	Dosis, mg/kg	Senkung des Cholesterinspiegels (%)	
		Blut	Leber
Methylester	5	23,8	18,4
Äthylester	5	23,3	18,0
Butylester	5	19,5	15,7
Benzylester	5	24,4	18,5
Natriumsalz	2	27,5	18,9
Calciumsalz	5	21,4	17,1
Monacolin K	10	22,4	16,7
ML-236-B	40	24,6	20,9

Die Senkung des Blut- bzw. Leber-Cholesterinspiegels errechnet sich nach der Formel:

$$\frac{1 - (C - B)}{A - B} \times 100$$

- Hierbei bedeuten A = Spiegel, der nur mit Triton WR-1339 behandelten Gruppe;
B = Spiegel der unbehandelten Kontrollgruppe
C = Spiegel der Testgruppe.

3. Akute Toxizität

Getestet werden die Methyl-, Äthyl-, Butyl- und Benzylester sowie die Natrium- und Kaliumsalze von Monacolin K. Die LD₅₀ jeder dieser Verbindungen beträgt bei oraler Verabreichung mindestens 2 000 mg/kg und bei intraperitonealer Verabfolgung mindestens 500 mg/kg. Die Verbindungen besitzen somit sehr niedrige Toxizität.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen die Biosynthese von Cholesterin inhibieren und somit den Blut-Cholesterinspiegel senken. Sie sind daher wertvolle Arzneistoffe zur Behandlung der Hyperlipämie und der Arteriosklerose.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können oral oder parenteral in Form von Kapseln, Tabletten, Injektionspräparaten oder anderen bekannten Formulierungen verabreicht werden, obwohl normalerweise die orale Verabreichung bevorzugt ist. Die Dosis richtet sich nach dem Alter und dem Körpergewicht des Patienten und dem Schweregrad seines Zustands. Im allgemeinen beträgt jedoch die Tagesdosis für Erwachsene vorzugsweise 0,1 bis 100 mg, insbesondere 0,1 bis 10 mg, im Falle von Monacolin K-salzen und 0,5 bis 100 mg, insbesondere 0,5 bis 10 mg, im Falle von Monacolin K-estern.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen ist in den nachstehenden Beispielen erläutert.

B e i s p i e l 1

Natrium Salz von Monacolin K

300 Liter eines Kulturmediums, dessen pH vor der Sterilisation 5,5 beträgt und das 5 % G/V Glucose, 0,5 % G/V Maisquellflüssigkeit, 2 % G/V Pepton ("Kyokuta" von der Kyokuto Seiyaku KK, Japan) und 0,5 % G/V Ammoniumchlorid enthält, werden in einen 600 Liter-Fermenter eingebracht und mit *Monascus ruber* SANK 18174 (Form 4957) beimpft. Die Züchtung des Organismus erfolgt 116 Stunden bei 26°C mit einer Belüftungsrate von 300 Liter/min und unter Rühren mit 190 U/min. Hierauf wird der pH der Kulturbrühe, die den Organismus enthält, durch Zugabe von 6 N Salzsäure auf 3,4 eingestellt, worauf man die Brühe mit 800 Liter Methanol extrahiert. Nach Zugabe von 6 kg Hyflo Super Cel wird der Extrakt mit einer Filterpresse filtriert, wobei 1100 Liter Methanolextrakt erhalten werden. Dieser Extrakt wird mit 200 Liter gesättigter wäßriger Natriumchloridlösung und dann mit 180 Liter Äthylcyclohexan gewaschen. Die erhaltene Lösung wird mit 600 Liter Äthylendichlorid extrahiert, worauf man den Extrakt mit 50 g Trifluoressigsäure versetzt und 30 Minuten bei 80°C umsetzt. Das Reaktionsgemisch wird dann nacheinander mit 200 Liter einer wäßrigen 2 % G/V Natriumbicarbonatlösung und 200 Liter einer wäßrigen 10 % G/V Natriumchloridlösung gewaschen und unter vermindertem Druck eingedampft, wobei 135 g einer öligen Substanz erhalten werden.

Diese ölige Substanz wird in 400 ml Methanol gelöst, worauf man 20 ml der Methanollösung, die 6,8 g des Öls enthält, der präparativen Schnellflüssigkeitschromatographie unter Verwendung eines Waters Co. Limited System 500, das mit einer Prepac C₁₈-Kolonne (Umkehrphasenkolonne) ausgerüstet ist, unterwirft. Unter Verwendung von Methanol/Wasser (Volumenver-

hältnis 85 : 15) als Eluiermittel wird die Entwicklung bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 200 ml/min (Entwicklungszeit: etwa 10 min) durchgeführt, wobei ein mit dem unteren Ende verbundenes Differentialrefraktometer beobachtet wird. Die Fraktion, die in dem Differentialrefraktometer den Hauptpeak ergibt, wird abgetrennt. Dieses Verfahren wird wiederholt und die erhaltenen Hauptpeak-Fractionen werden gesammelt und eingeengt, wobei 10,2 g einer öligen Substanz erhalten werden. Diese wird in 30 ml Methanol gelöst, worauf man 6 ml der Methanollösung, die etwa 2 g des Öls enthält, nochmals derselben präparativen Schnellflüssigkeitschromatographie unterwirft und mit Methanol/Wasser (Volumenverhältnis 80 : 20) mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 200 ml/min entwickelt. Die den Hauptpeak ergebende Fraktion wird abgetrennt. Dieses Verfahren wird wiederholt und die Hauptpeak-Fractionen werden gesammelt und konzentriert. Durch Behandeln des Rückstands mit wäbrigem Methanol erhält man 1170 mg Rohkristalle, die mehrmals aus Äthanol umkristallisiert werden und dabei 864 mg Kristalle ergeben.

Diese Kristalle werden mit 19,4 ml 0,1 N Natronlauge versetzt und 3 Stunden bei 50 bis 60°C gerührt. Nach dem Abfiltrieren von unlöslichen Bestandteilen wird das Filtrat gefriergetrocknet und ergibt 900 mg des Natriumsalzes von Monacolin K mit den folgenden Eigenschaften:

1. Farbe und Form: weißes Pulver

2. Elementaranalyse (%)	C	H	Na
ber.:	64,84	8,38	5,17
gef.:	64,78	8,55	5,21

3. Molekulargewicht: 444 (massenspektrometrisch).

4. Summenformel: $C_{24}H_{37}O_6Na$.
5. UV-Absorptionsspektrum: In Fig. 1 gezeigt.
 λ_{max} 232 nm ($\log \epsilon = 4,30$);
 239 nm ($\log \epsilon = 4,36$);
 248 nm ($\log \epsilon = 4,19$).
6. IR-Absorptionsspektrum (KBr): In Fig. 2 gezeigt.
7. NMR-Spektrum (D_2O): In Fig. 3 gezeigt.
8. Schnellflüssigkeitschromatographie:
Verweilzeit: 8,5 min
Säule: Microbondapac C18;
60 % V/V wäßriges Methanol + 0,1 % PIC-A (Produkt der
Waters Co. Limited);
Strömungsgeschwindigkeit: 1,5 ml/min
In Fig. 4 gezeigt.
9. Löslichkeit: Löslich in Wasser; unlöslich in organischen Lösungsmitteln.
10. Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +266^\circ$ ($c = 0,33$, Wasser).

Beispiel 2

Natriumsalz von Monacolin K

300 Liter eines Kulturmediums, das vor der Sterilisation einen pH von 7,4 aufweist und 1,5 % G/V lösliche Stärke, 1,5 % G/V Glycerin, 2,0 % G/V Fischmehl und 0,2 G/V Calciumcarbonat enthält, wird in einen 600 Liter-Fermenter eingebracht und mit *Monascus ruber* SANK 17075 (CBS 832.70) beimpft. Die Züchtung des Organismus erfolgt 120 Stunden bei 26°C mit einer Belüftungsrate von 300 Liter/min und unter Rühren mit 190 U/min.

Die Kulturbrühe wird dann mit einer Filterpresse filtriert, wobei 35 kg (Feuchtgewicht) des Organismus erhalten werden. Dieser wird mit 100 Liter Wasser versetzt und der pH des Gemisches wird durch Zugabe von Natriumhydroxid unter Rühren auf 12 eingestellt. Das Gemisch wird dann 1 Stunde bei Raumtemperatur stehengelassen, anschließend mit 2 kg Hyflo Super Cel versetzt und mit einer Filterpresse filtriert. Das Filtrat wird dann durch Zugabe von Salzsäure auf einen pH von 10 gebracht, worauf man das erhaltene Gemisch auf einer Säule adsorbiert, die 5 Liter HP-20-Harz enthält, das mit je 15 Liter Wasser und einer 10prozentigen V/V wäßrigen Methanollösung gewaschen wurde. Die Säule wird dann mit 90prozentigem V/V wäßrigem Methanol eluiert, worauf man das Eluat auf ein Volumen von etwa 10 Liter konzentriert, seinen pH durch Zugabe von Salzsäure auf einen Wert von 2 einstellt und das Gemisch mit Äthylacetat extrahiert. Der Extrakt wird mit wäßriger Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockene eingedampft, wobei 50 g einer öligen Substanz erhalten werden, die Monacolin K-säure enthält. Die ölige Substanz wird mit Methanol auf ein Gesamtvolumen von 100 ml aufgefüllt. 20 ml der erhaltenen Lösung werden der präparativen Schnellflüssigkeitschromatographie unter Verwendung der in Beispiel 1 beschriebenen Umkehrphasenkolonne unterworfen und mit einer 20prozentigen V/V-wäßrigen Methanollösung, die 2 % Essigsäure enthält, mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 200 ml/min eluiert. Die Fraktion, die in dem Differentialrefraktometer den Hauptpeak zeigt, wird abgetrennt (7 bis 10 Minuten). Die restlichen 80 ml der Methanollösung werden dann auf dieselbe Weise behandelt. Die erhaltenen Hauptpeak-Fractionen werden gesammelt, konzentriert und mit Äthylacetat extrahiert. Der Extrakt wird nach Zugabe von Heptan zur Trockene eingeeengt und ergibt 1,2 g einer öligen Substanz.

Diese ölige Substanz wird in 20 ml Methanol gelöst und dann der vorstehenden Schnellflüssigkeitschromatographie unterworfen, wobei 150 mg Monacolin K-säure erhalten werden. Diese wird mit 2 ml Methanol und 100 ml Wasser versetzt, worauf man den pH der erhaltenen Lösung durch Zugabe von 1 N Natronlauge auf 8,0 einstellt und eine klare wässrige Lösung erhält. Diese Lösung wird durch eine Säule geleitet, die 10 ml HP-20-Harz enthält, worauf man die Säule mit 100 ml Wasser wäscht und mit 80 % V/V wässrigem Methanol eluiert. Durch Gefriertrocknen des Eluats erhält man 130 mg des Natriumsalzes von Monacolin K in Form eines weißen Pulvers. Die Eigenschaften des Produkts sind identisch mit denen des Produkts aus Beispiel 1.

Beispiel 3

Calciumsalz von Monacolin K

Die in Beispiel 1 beschriebene Züchtung, Extraktion, Konzentrierung, präparative Schnellflüssigkeitschromatographie und Umkristallisation aus Äthanol werden wiederholt. 500 mg der erhaltenen Kristalle werden dann in 50 ml Methylenchlorid gelöst, worauf man die erhaltene Lösung durch ein Millipore-Filter filtriert. Das Filtrat wird mit 20 ml einer gesättigten wässrigen Calciumhydroxidlösung versetzt und das Gemisch wird bei Raumtemperatur kräftig gerührt. Sobald der pH der Lösung unter einen Wert von 8 sinkt, gibt man weitere 10 ml der gesättigten wässrigen Calciumhydroxidlösung zu und setzt das Rühren fort. Wenn der pH nicht mehr abnimmt (nach Zugabe von insgesamt 50 ml der wässrigen Calciumhydroxidlösung) versetzt man mit destilliertem Wasser und bringt die gesamte Lösung in einen Trenntrichter ein. Die organische Phase wird gesammelt und das Lösungsmittel wird abdestilliert. Nach Aufarbeiten des Rückstands mit Heptan wird das erhaltene Pulver einer Ultraschallbehandlung unterworfen. Das Pulver wird

filtriert und getrocknet, wobei 450 mg des Calciumsalzes von Monacolin K in Form eines weißen Pulvers erhalten werden. Dieses Calciumsalz hat folgende Eigenschaften:

1. Molekulargewicht: 332 (massenspektrometrisch)
2. Summenformel: $(C_{24}H_{37}O_6)_2 \cdot Ca$
3. Schmelzpunkt: 155 bis 165°C (Zersetzung)
4. Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +209^\circ$ ($c = 1,48$, Chloroform)
5. IR-Absorptionsspektrum (KBr): In Fig. 5 gezeigt.
6. NMR-Spektrum (CD_3OD): In Fig. 6 gezeigt.

B e i s p i e l 4

Methylester von Monacolin K

Die in Beispiel 1 beschriebene Züchtung, Extraktion, Konzentrierung, präparative Schnellflüssigkeitschromatographie und Umkristallisation aus Äthanol werden wiederholt, wobei 864 mg Monacolin K erhalten werden. 200 mg Monacolin K werden in 20 ml Methanol gelöst, das vorher mit 3 Å - Molekularsieb entwässert worden ist. Nach Zugabe von einigen Tropfen Acetylchlorid wird die Lösung 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der Rückstand wird mit 50 ml Äthylacetat extrahiert. Der Extrakt wird nacheinander mit 2 % G/V wässriger Natriumbicarbonatlösung und gesättigter wässriger Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird an einer Säule absorbiert, die 10 g Silicagel (Wakogel C-100) enthält, das vorher mit Benzol behandelt wurde. Die mit Äthylacetat/Benzol (Volumenverhältnis 6 : 94) eluierten Fraktionen werden gesammelt und durch Abdestillieren

des Lösungsmittels erhält man 65 mg des Methylesters von Monacolin K als farbloses Öl. Dieses Produkt hat folgende Eigenschaften:

1. Molekulargewicht: 436,6 (massenspektrometrisch)
2. Summenformel: $C_{25}H_{40}O_6$
3. Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +203^\circ$ ($c = 1,05$,
Methanol)
4. IR-Absorptionsspektrum: In Fig. 7 gezeigt.
5. NMR-Spektrum: In Fig. 8 gezeigt.

Beispiel 5

Methylester von Monacolin K

Das Natriumsalz von Monacolin K wird gemäß Beispiel 2 hergestellt. 100 mg des Natriumsalzes werden in 2 ml Dimethylsulfoxid gelöst und mit 50 µl Methyljodid versetzt. Die Lösung wird dann 5 Stunden unter Rühren bei 40 bis 50°C in einem mit Rückflußkühler ausgerüsteten Reaktor unter Rückfluß erhitzt. Hierauf verdünnt man das Reaktionsgemisch mit 5 ml Wasser und extrahiert mit 10 ml Methylenchlorid. Das Lösungsmittel wird aus dem Extrakt abdestilliert und der Rückstand wird auf einer Säule adsorbiert, die 10 g Silicagel (Wakogel C-100) enthält, das vorher mit Benzol behandelt wurde. Die mit Äthylacetat/Benzol (Volumenverhältnis 4 : 96) eluierten Fraktionen werden gesammelt und durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man 35 mg des Methylesters von Monacolin K in Form eines Öls.

B e i s p i e l 6

Äthylester von Monacolin K

100 mg des gemäß Beispiel 1 hergestellten Monacolin K werden in 15 ml Äthanol gelöst, das vorher mit 3 Å-Molekularsieb entwässert worden ist. Die Lösung wird mit einigen Tropfen Acetylchlorid versetzt, worauf man das Gemisch 3 Stunden bei Raumtemperatur rührt, hierauf das Lösungsmittel abdestilliert und den Rückstand mit 50 ml Äthylacetat extrahiert. Der Extrakt wird nacheinander mit 2 % G/V wäßriger Natriumbicarbonatlösung und gesättigter wäßriger Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand auf einer Säule adsorbiert, die 10 g Silicagel C (Wakogel C-100) enthält, das vorher mit Benzol behandelt wurde. Die mit Äthylacetat/Benzol (Volumenverhältnis 6 : 94) eluierten Fraktionen werden gesammelt und durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man 30 mg des Äthylesters von Monacolin K in Form eines farblosen Öls. Diese Verbindung hat folgende Eigenschaften.

1. Molekulargewicht: 450,6 (massenspektrometrisch)
2. Summenformel: $C_{26}H_{42}O_6$
3. IR-Absorptionsspektrum ($CHCl_3$): In Fig. 9 gezeigt.
4. NMR-Spektrum ($CDCl_3$): In Fig. 10 gezeigt.

B e i s p i e l 7

Butylester von Monacolin K

200 mg des gemäß Beispiel 1 hergestellten Monacolin K werden in 20 ml Butanol gelöst, das vorher mit 3 Å Molekularsieb entwässert worden ist. Nach Zugabe von einigen Tropfen Ace-

tylchlorid wird das erhaltene Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Hierauf destilliert man das Lösungsmittel ab und extrahiert den Rückstand mit 50 ml Äthylacetat. Der Extrakt wird nacheinander mit 2 % G/V wäßriger Natriumbicarbonatlösung und gesättigter wäßriger Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird auf einer Säule adsorbiert, die 10 g Silicagel (Wakogel C-100) enthält, das vorher mit Benzol behandelt wurde. Die mit Äthylacetat/Benzol (Volumenverhältnis 4 : 96) eluierten Fraktionen werden gesammelt und durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man 80 mg des Butylesters von Monacolin K in Form eines farblosen Öls. Diese Verbindung hat folgende Eigenschaften:

1. Molekulargewicht: 478,7 (massenspektrometrisch)
2. Summenformel: $C_{28}H_{46}O_6$
3. IR-Absorptionsspektrum ($CHCl_3$): In Fig. 11 gezeigt
4. NMR-Spektrum ($CDCl_3$): In Fig. 12 gezeigt.

Beispiel 8

Benzylester von Monacolin K

200 mg des gemäß Beispiel 1 hergestellten Monacolin K werden in 20 ml Benzylalkohol gelöst, der vorher mit 3 Å-Molekularsieb entwässert worden ist. Nach Zugabe einiger Tropfen Acetylchlorid wird das erhaltene Gemisch 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Hierauf destilliert man das Lösungsmittel ab und extrahiert den Rückstand mit 50 ml Äthylacetat. Der Extrakt wird nacheinander mit 2 % G/V wäßriger Natriumbicarbonatlösung und gesättigter wäßriger Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft.

3028284

Der Rückstand wird auf einer Säule absorbiert, die 10 g Silicagel (Wakogel C-100) enthält, das vorher mit Benzol behandelt wurde. Die mit Äthylacetat/Benzol (Volumenverhältnis 4 : 26) eluierten Fraktionen werden gesammelt und durch Abdampfen des Lösungsmittels erhält man 70 mg des Benzylesters von Monacolin K in Form eines farblosen Öls. Diese Verbindung hat folgende Eigenschaften:

1. Molekulargewicht: 512,6 (massenspektrometrisch)
2. Summenformel: $C_{31}H_{44}O_6$
3. IR-Absorptionsspektrum ($CHCl_3$): In Fig. 13 gezeigt.
4. NMR-Spektrum ($CDCl_3$): In Fig. 14 gezeigt.

DEA-13 433

3028284

FIG. 3

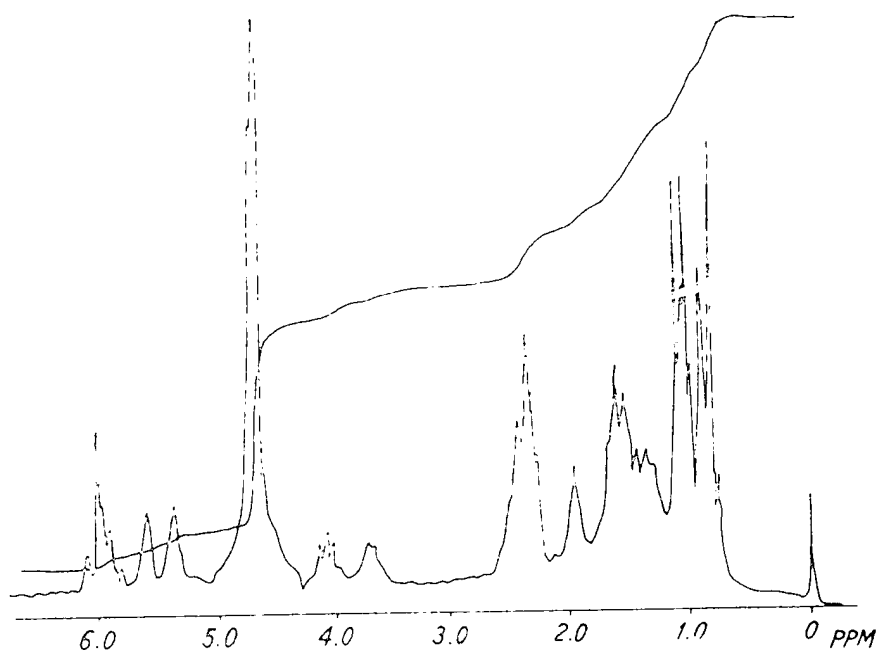
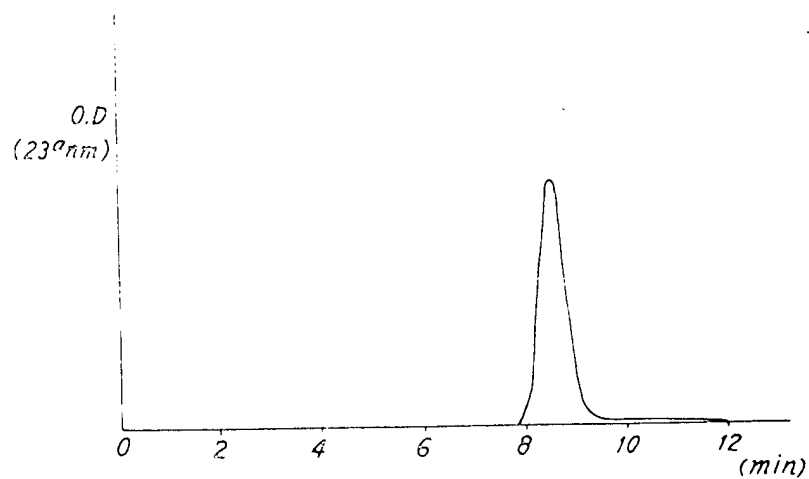
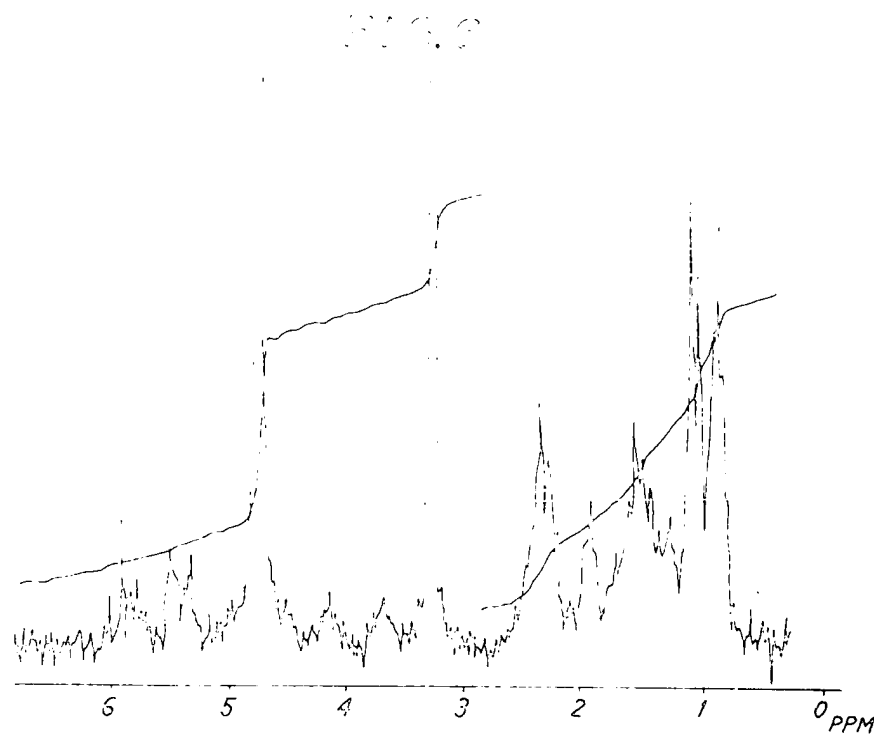
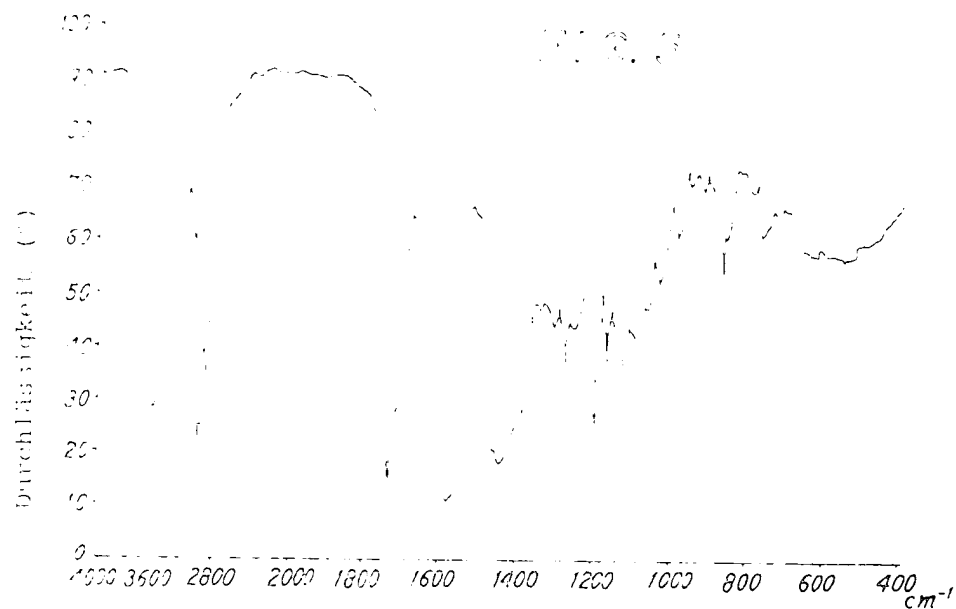


FIG. 4



130008/C799

3028284



130008/0793

DEA-13 433

3028284

FIG. 7

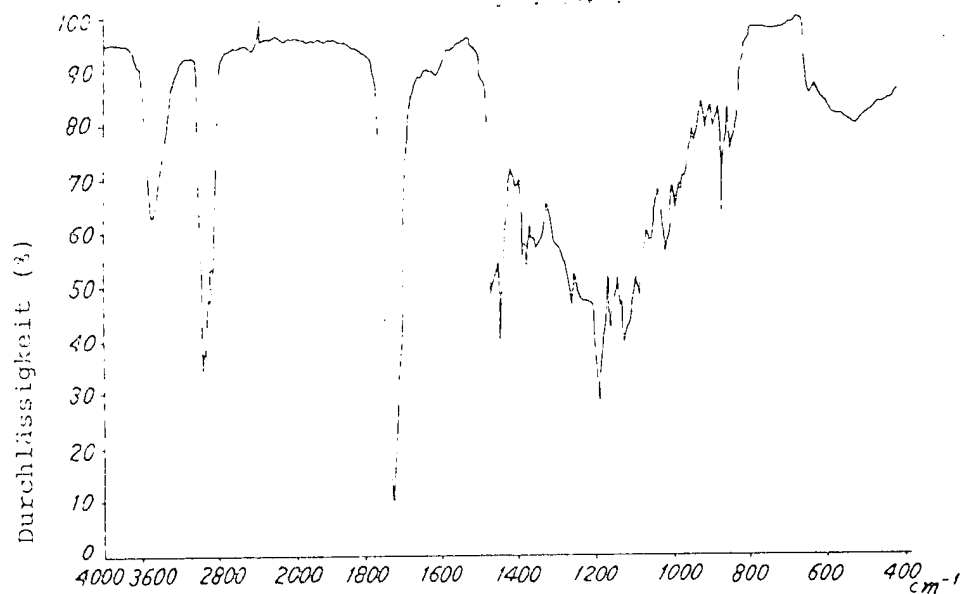
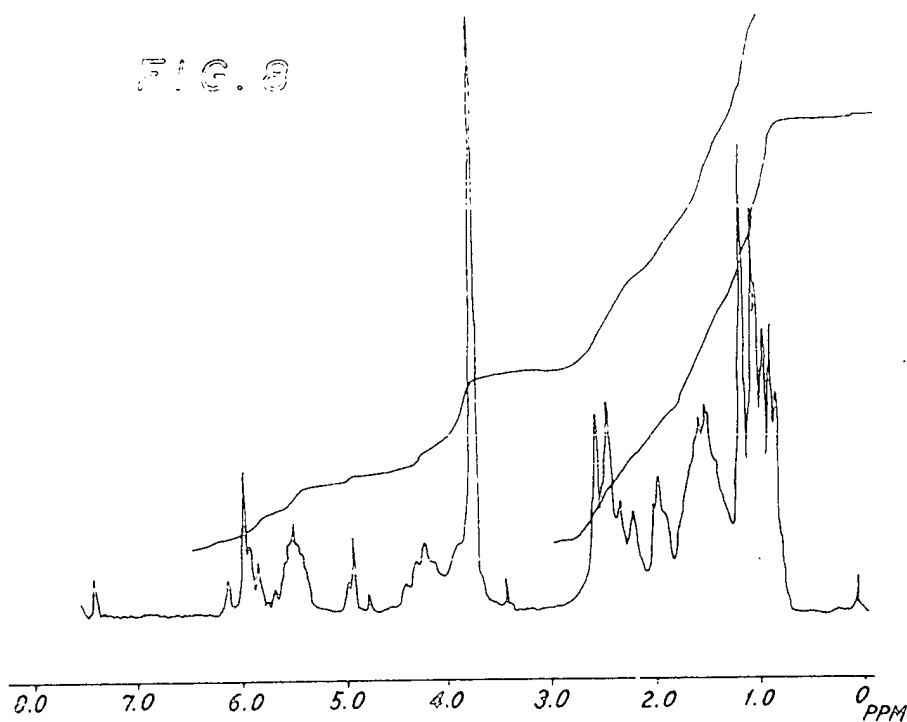


FIG. 8

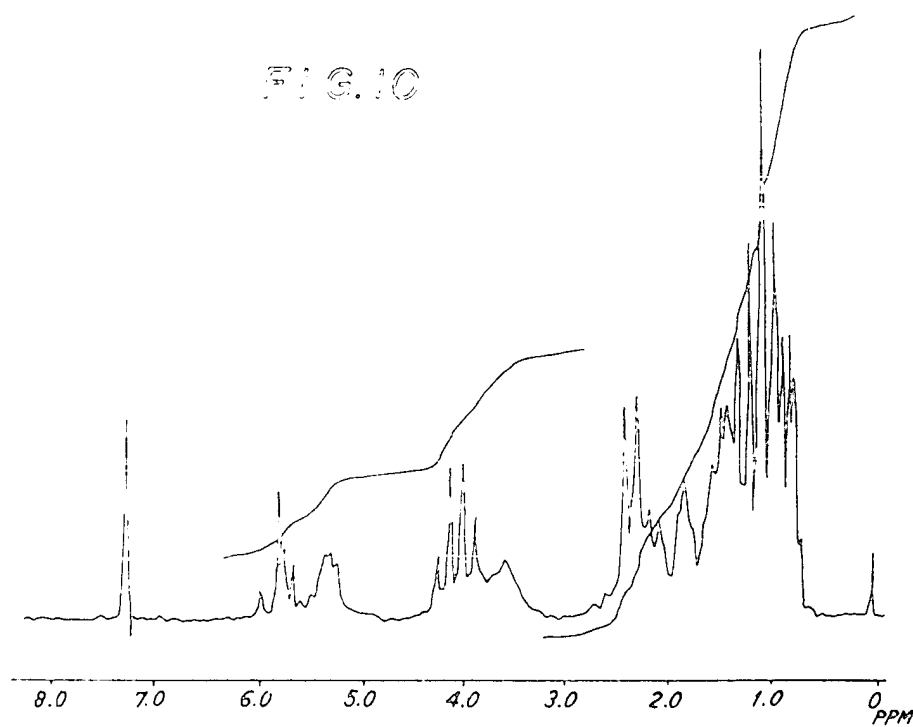
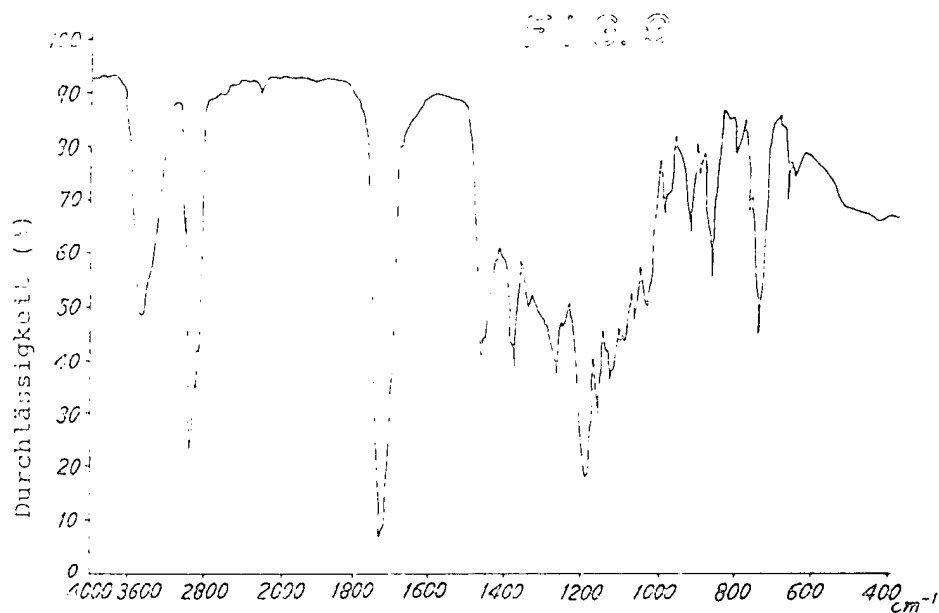


130008/0799

FEA-13 433

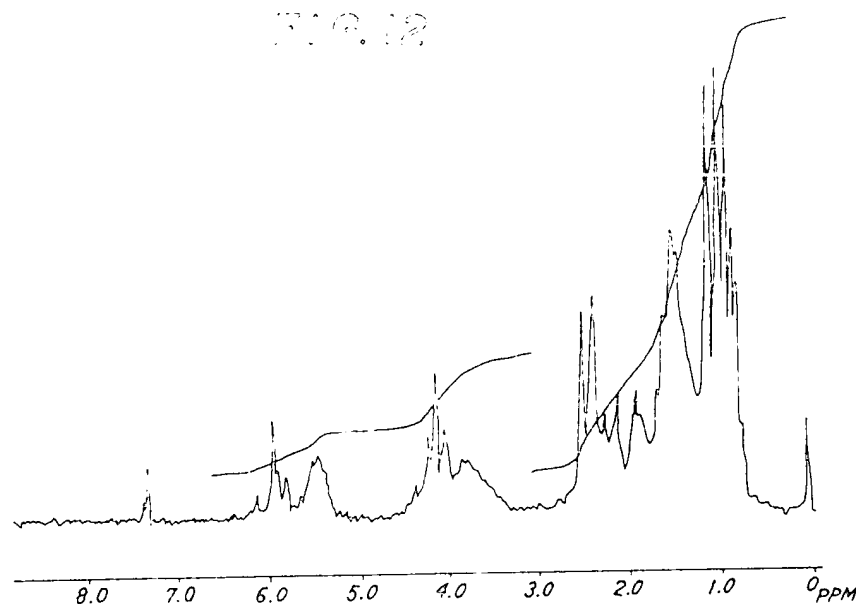
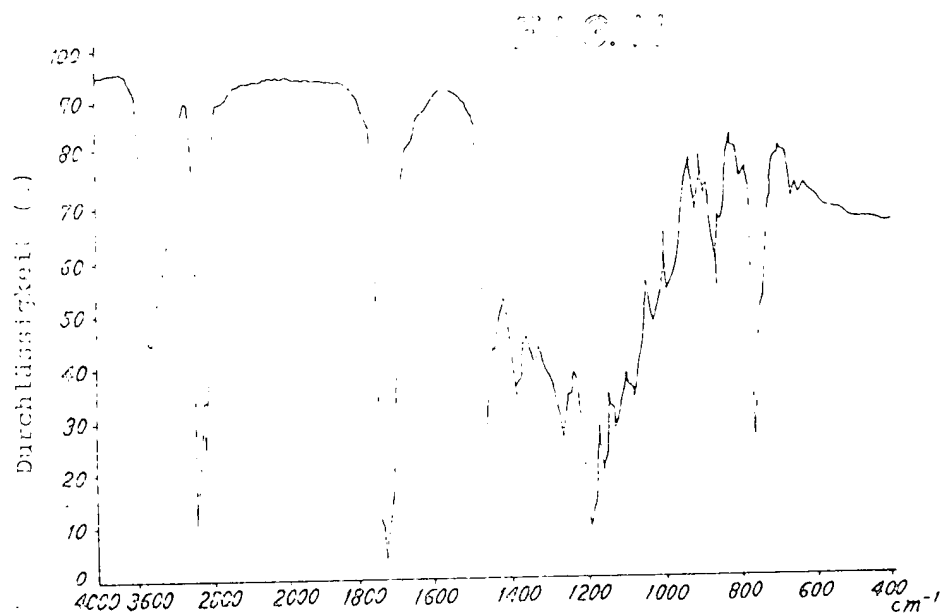
-3000

3028284



130008/0799

3028284



130008/0799

-36-

3028284

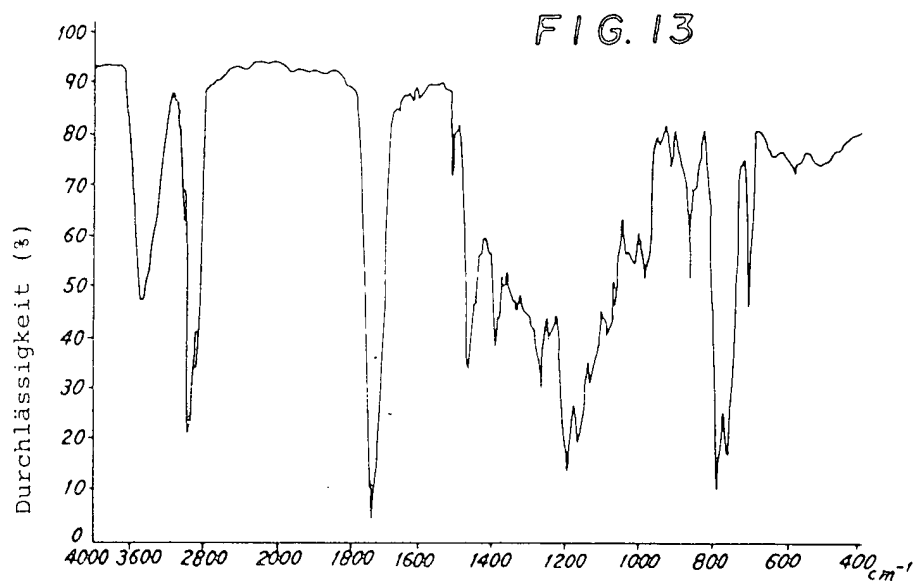
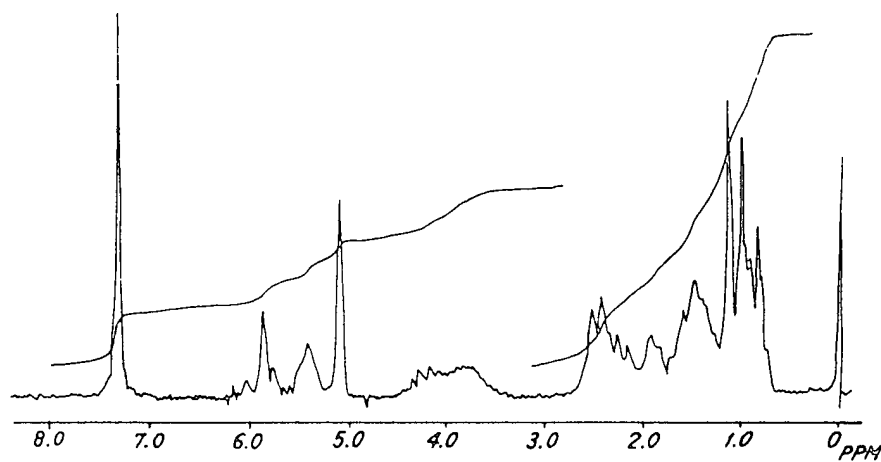


FIG. 14



130008/0799

Name:
 Pat. Nr.:
 Anmeldedat.:
 Offenlegungsdat.:

3028284
 25. Juli 1980
 18. Februar 1981

DEA-13 433

3028284

Fig. 1

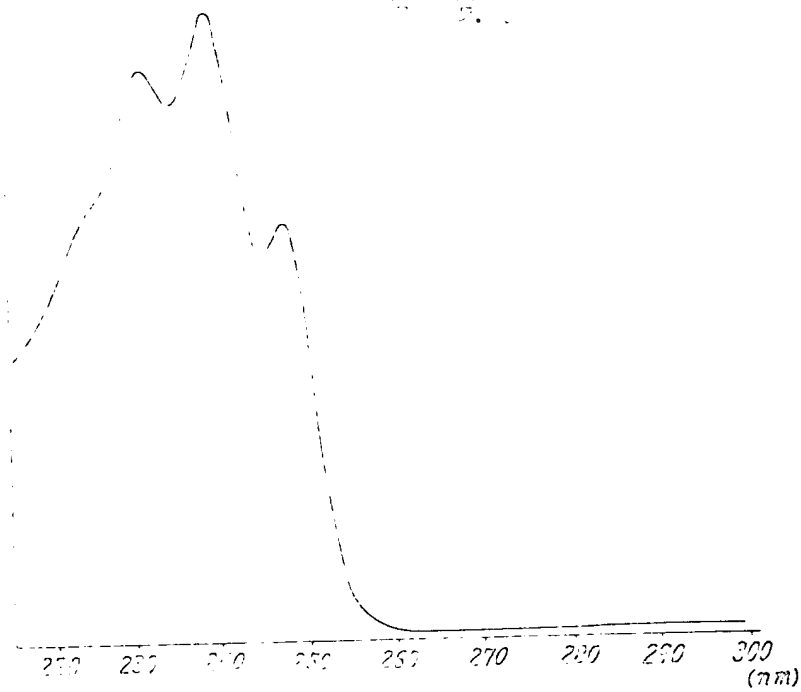
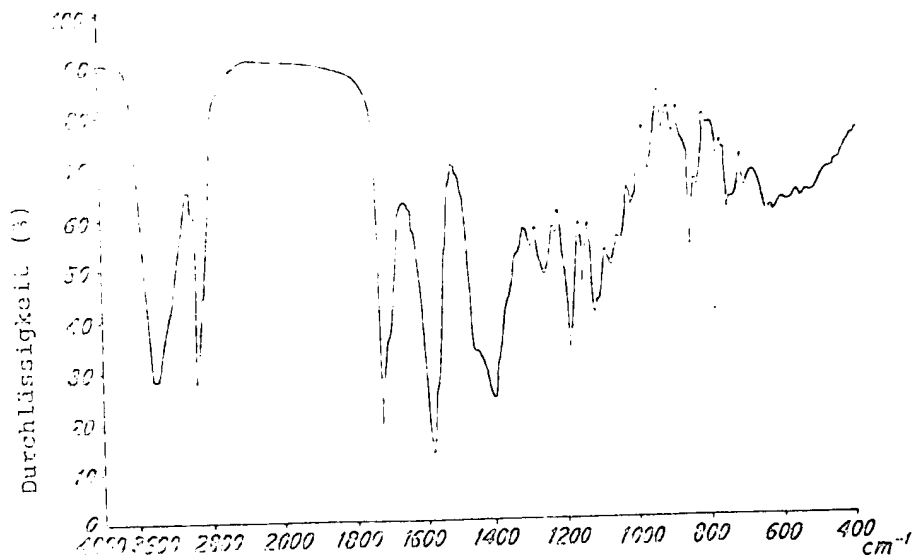


Fig. 2



300003/8788